

USSR Invention Specification SU 1757666 A1
Method for Modeling Central Dystrophy of the Retina

Summary

Use: In medicine, specifically in ophthalmology, and it can be used for modeling of central dystrophy of the retina. Essence of the invention: Central dystrophy of the retina is induced by exposure to luminescent lamps on a background of activation of lipid peroxidation by giving experimental animals feed without antioxidants for 100 to 120 days. Positive effects: The obtained results indicate that the proposed method of modeling central dystrophy of the retina is an adequate involution maculodystrophy, since it permits recreation not only of local changes in the retina, but also general changes in the body of patients, which makes it possible to investigate a set of pathogenic mechanisms and development of methods for deliberate treatments and prevention of this serious widespread disease.



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

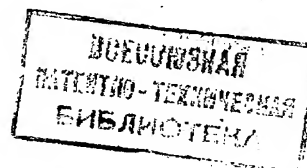
(19) **SU** (11) **1757666 A1**

(51)5 **A 61 F 9/00**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

(21) 4882446/14

(22) 14.11.90

(46) 30.08.92. Бюл. № 32

(71) Одесский медицинский институт им.
Н.И.Пирогова

(72) А.М.Солдатова и О.Н.Воскресенский

(56) Зуева М.В. Повреждающее действие ви-
димого света на сетчатку глаза. Авт. дисс.
к.т.н. М., 1980, с. 24.

(54) СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ СЕТЧАТКИ

(57) Использование: в медицине, а именно в офтальмологии, и может быть использовано для моделирования центральной дистрофии сетчатки. Сущность изобретения: центральную дистрофию сетчатки индуцируют облу-

2

чением ее люминесцентными лампами на фоне активации перекисного окисления липидов дачей экспериментальным животным безантиоксидантного рациона в течение 100–120 дней. Положительный эффект: полученные результаты показывают, что предложенный способ моделирования центральной дистрофии сетчатки является адекватным инволюционной макулодистрофии, так как позволяет воссоздать не только местные изменения в сетчатке, но и общие изменения в организме больных, что делает возможным изучение комплекса патогенетических механизмов и разработку методов направленного лечения и профилактики этого тяжелого распространенного заболевания. 1 табл.

Изобретение относится к области экспериментальной медицины, а именно экспериментальной офтальмологии, и может быть использовано для моделирования центральной дистрофии сетчатки.

Известен способ моделирования дегенерации сетчатки с помощью интенсивного светового излучения. Интенсивный засвет сетчатки (100000–10000000 Лк осуществляют на уровне роговицы, облученность сетчатки – 0,1–0,2 ватт/см² в течение 1–3 часов). Однако при воздействии мощного светового излучения происходит переокисление белков и липидов фоторецепторных мембран, приводящее к их необратимому повреждению.

К недостаткам известного способа относится также отсутствие важнейшего патогенетического звена возрастной дистрофии сетчатки – хориосклероза, липоидоза мембраны Бруха. В связи с этим испытание различных способов дистрофии сетчатки на моделях фотодегенерации сетчатки, является неадекватным.

Целью настоящего изобретения является повышение воспроизводимости способа.

Цель достигается путем воздействия на сетчатку физическим фактором, отличающемся тем, что центральную дистрофию сетчатки индуцируют облучением ее люминесцентными лампами дневного света с освещенностью на уровне роговицы 3000–4000 Лк на фоне активации перекисного

(19) **SU** (11) **1757666 A1**

окисления липидов, дачей экспериментальным животным безантиоксидантного рациона в течение 100–120 дней.

Способ осуществляется следующим образом. Опытные животные (кролики) содержатся в течение 100–120 дней на полунатуральном безантиоксидантном рационе, включающем окисленный жир с низким уровнем токоферола. Состав рациона следующий: окисленный маргарин или кокосовое масло – 10%, казеин 10%, крахмал – 37,48%, сахар – 5%, овес, экстрагированный последовательно этаноном и гексаном для удаления липидных антиоксидантов – 1,5%, измельченная солома – 5%, сухие дрожжи – 10%, витамин А – 20000 ЕД/кг, витамин Д – 2000 ЕД/кг, солевая смесь – 5%, ацетат калия – 2,1%, ацетат магния – 0,42%. Ежедневно в течение 10–12 часов животные находятся под воздействием люминесцентных ламп дневного света, создающих освещенность на уровне роговицы – 3000–4000 Лк/облученность сетчатки при этом составляла $0,06\text{--}0,045 \times 10^{-2}$ ватт/см², т.е. была на несколько порядков ниже облученности сетчатки, описанной в литературе для моделирования фотодегенераций – 0,1–0,2 ватт/см².

Контролем служат животные, находящиеся на безантиоксидантном рационе без облучения светом люминесцентных ламп (освещенность в клетке – 50–70 Лк), а также кролики, получающие обычный сбалансированный рацион и облучение люминесцентными лампами, как в опытной группе.

Моделирование склеротической макулодистрофии по предлагаемой нами схеме проведено на 15 кроликах (30 глазах). При этом был получен широкий круг биохимических и морфологических изменений, характерных для склеротической макулодистрофии.

Офтальмоскопические изменения на глазном дне стали появляться к концу второго месяца. Они выражались в неравномерности калибра артерий и вен сетчатки, перераспределении пигмента. Эти изменения усиливались и к 90–100 дню эксперимента были аналогичны тем, что наблюдаются у больных склеротической макулодистрофией при ее начальной стадии, уплотнение стенок, сужение артерий сетчатки, очажки белесовато-желтоватого цвета, перераспределение пигмента, крапчатость. Изменения были выражены в наибольшей степени в центральной части сетчатки.

При гистологическом исследовании отмечены следующие изменения: в сосудистой оболочке имела место облитерация

отдельных хориокапилляров. В сосудах изменяется отношение клеточного состава и волокнистых субстанций в сторону преобладания последних. Волокнистые структуры увеличиваются в количестве и в значительной мере утолщаются, просвет сосудов суживается. Деструкция эластических волокон сочетается с наличием липидно-инфильтративных изменений, клеточной инфильтрации, кальциноза и фиброза.

Мембрана Бруха утолщается, в ней появляются очаги липоидоза. В этих зонах отмечается деструкция пигментного эпителия. В ряде случаев под мембраной имело место отложение суданфильных масс. Неоднократно отмечалось наличие зон отслоения пигментных клеток. Имела место дезорганизация всех слоев сетчатки, частичная атрофия пигментных клеток, дегенеративные изменения ядерных слоев сетчатки. Участки значительно выраженных изменений чередовались с участками менее заметных изменений, а также с участками сетчатки, сохранившими нормальную структуру.

Биохимические исследования сетчатки показали нарастание процессов перекисного окисления, причем через 1 мес. Это сопровождалось некоторым увеличением активности антиперекисных ферментов, а через 3 месяца компенсаторные механизмы истощались и активность глутатионредуктазы резко снижалась. Указанные изменения отражены в таблице.

В крови в опытной группе прослеживалась гиперлипемия, синдром перекисидации: общие липиды – $5,76 \pm 0,77$ г/л, в интактной группе – $3,74 \pm 0,41$ г/л, перекисный гемоллиз эритроцитов – $50 \pm 4,8\%$, в интактной группе – $5,1 \pm 0,62\%$.

В I контрольной группе у животных, содержащихся на безантиоксидантном рационе при освещенности 50–70 Лк, клинически выраженных признаков дистрофии сетчатки мы не получили, хотя гистологически были отмечены явления хориосклероза, в 4 случаях из 10 небольшие участки липоидоза мембраны Бруха.

Во II контрольной группе у кроликов, находившихся при освещенности 3000–4000 Лк и на обычном рационе, офтальмоскопически дистрофические изменения в сетчатке также не определялись. Гистологически в отдельных участках на 5 глазах отмечалась небольшая деструкция пигментного эпителия.

Таким образом, только сочетание общей антиоксидантной недостаточности и местного воздействия видимым светом по-

зволяет получить модель дистрофии сетчатки, адекватную склеротической макулодистрофии.

У 5 кроликов на 10 глазах проведено моделирование дистрофии сетчатки, как в аналоге, с помощью интенсивного засвета сетчатки (100000 Лк) в течение 1,5 часов. Через 3 дня после засвета появился выраженный отек сетчатки, который к концу 1-го месяца значительно уменьшился. На 5-6 неделе отек исчез, в центральной части сетчатки появилась крапчатость, перераспределение пигмента, атрофические белые очажки. Гистологически определялось утолщение мембраны Бруха, очаговая атрофия пигментного эпителия, фоторецепторов сетчатки. Однако участков липоидоза и кальциноза мембраны Бруха, хориосклероза, которые являются неотъемлемыми признаками склеротической дистрофии сетчатки, отмечено не было. В плазме крови кроликов, не отмечено существенных отклонений от нормы.

Таким образом, предложенный нами способ моделирования склеротической дистрофии сетчатки является адекватным возрастной макулодистрофии, так как позволяет воссоздать не только местные изменения в сетчатке, но и общие изменения в организме, что делает возможным изучение комплекса патогенетических механизмов ее и разработку методов направленного лечения и профилактики этого тяжелого распространенного заболевания.

Примеры конкретного выполнения способа.

Пример 1. Кролик – шиншилла весом 2,600 кг. Получал в течение 120 дней безантиоксидантный рацион (кокосовое масло – 10%, казеин – 10%, крахмал – 37,48%, сахар – 5%, овес экстрагированный – 15%, солома измельченная – 5%, сухие дрожжи – 10%, соленая смесь 5%, ацетат калия 2,1%, ацетат магния 0,42%). В защечную область с помощью зонда ежедневно вводили вит. А (50000 Ед) и вит. Д (5000 Ед). С помощью рефлекторов с люминесцентными лампами в клетке создавалась освещенность 2000–2500 Лк в течение 12 часов в сутки. При офтальмоскопии до начала опыта установлено: диск зрительного нерва бледно-розовый, окружен миелиновыми волокнами, калибр артерий и вен сетчатки равномерный, соотношение калибра вены и артерии 1:0,8, в центральной зоне глазного дна равномерная пигментация, очаговых изменений нет, по периферии глазного дна неравномерная пигментация типа паркетного глазного дна.

На 100 день эксперимента отмечена неравномерность калибра, некоторое сужение артерий. На 120 день эксперимента при офтальмоскопии в обратном и прямом виде имели место сужение артерий сетчатки ($b:a = 1:0,5$), неравномерность их калибра, уплотнение сосудистой стенки, очаговые изменения не определялись.

При гистологическом исследовании в хориодес – утолщение сосудистой стенки, сужение просвета сосудов, единичные очаги липоидоза, кальциноза. Мембрана Бруха слегка утолщена, неравномерной ширины. Пигментный слой тоньше, чем в контроле, но достоверные изменения в ядерных слоях сетчатки не определяются. На парном глазу в сетчатке биохимически определялось содержание малонового диальдегида – 182 мкмоль/г, содержание SH-групп – 8,8 моль/г, активность пероксидазы – 60,9 нмоль/с/г. В плазме крови общие липиды составляли 5,0 г/л, перекисный гемолиз эритроцитов – 42%.

Пример 2. Кролик – шиншилла весом 2,200 кг. Получал в течение 110 дней безантиоксидантный рацион с ежедневным введением 44000 Ед вит. А и 4500 Ед вит. Д. Освещенность в клетке от люминесцентных ламп на уровне роговицы – 3000–4000 Лк в течение 12 часов в сутки. При офтальмоскопии до начала опыта установлено: диск зрительного нерва бледно-розовый, границы его нечеткие из-за миелиновых волокон, калибр артерий и вен сетчатки равномерный, соотношение $b:a = 1:0,7$, центральная зона сетчатки равномерно пигментирована, без очаговых изменений, по периферии глазного дна пигментация в виде полос, очаговых изменений нет.

Первые офтальмоскопические изменения появились на 75 день эксперимента в виде пылевидного помутнения центральной части сетчатки, определяемого при офтальмоскопии в бескрасном свете. На 90 день офтальмоскопии в красном свете. На 100 день эксперимента офтальмоскопически определяли неравномерный калибр сосудов сетчатки, уплотнение сосудистой стенки – неравномерная пигментация, зоны атрофии пигментного эпителия, крапчатость, беловато-желтые атрофические очажки, единичные друзы. По периферии глазного дна – очаговая дистрофия пигментного эпителия, в сетчатке – мелкие единичные кисты.

При гистоморфологическом исследовании в хлорсидесе – утолщение сосудистой стенки, сужение просвета сосудов, очаги липоидоза, кальциноза, отек и деструкция эластичных волокон. В мембране Бруха также встречаются липидные бляшки, она нерав-

номерно утолщена. В пигментном эпителии участки атрофии, есть зоны отслоения. Наружный ядерный слой неравномерной толщины, есть участки атрофии. В ганглиозных клетках явления пикноза ядер, нарушение их полигональности. На парном глазу в сетчатке биохимически определялось содержание малонового диальдегида 195 мкмоль/г, SH-групп – 3,5 моль/г, активность глутатионпероксидазы – 19 нмоль/с/г. В плазме крови общие липиды составляли 5,3 г/л, перекисный гемолиз эритроцитов – 52%.

П р и м е р 3. Кролик – шиншилла весом 2,550 кг. В течение 100 дней находился на безантиоксидантном рационе с включением ежедневно 50000 Ед вит. А и 5000 Ед вит. Д. Освещенность в клетке от люминесцентных ламп составляла 4500–5000 Лк на уровне роговицы, световое воздействие проводилось в течение 12 часов ежедневно. До начала опыта офтальмоскопически определяли: диск зрительного нерва розовый, окружен миелиновыми волокнами, калибр артерий и вен сетчатки равномерный, соотношение $b:a = 1:0,7$, центральная область сетчатки равномерно пигментирована, без очаговых изменений, по периферии глазного дна неравномерная пигментация.

Кролик тяжело переносил условия эксперимента: в первые 7 дней отмечалась повышенная возбудимость, агрессивность, в последующем – заторможенность, угнетение. Офтальмоскопически на 14 день эксперимента в центральной зоне сетчатки определялось пылевидное помутнение. На 20 день появился легкий отек сетчатки, который значительно усилился к концу эксперимента. На 100 день эксперимента на глазном дне имела место следующая картина: диск зрительного нерва несколько гипермирован, вены сетчатки расширены, неравномерного калибра, артерии сужены, отношение $b:a = 1:0,4$ сетчатка отечна, особенно в центре, имеет неравномерную толщину, поверхность ее приобрела "шагреновый вид".

Гистологически в сосудистой оболочке определяется отек и деструкция эластических волокон, утолщение сосудистой стенки и облитерация просвета сосудов. Утолщение, в отдельных участках деструкции, липидоз и кальциноз, стекловидные пластинки, десквамация пластов пигментных клеток, разрушение части их с выходом пигментных глыбок внеклеточно и группированием их в фотосенсорном слое. В ядерных слоях сетчатки явления выраженного отека, пикноза ядер, в отдельных участках соединительнотканые тяжи.

На парном глазу в сетчатке содержание малонового диальдегида составляло 250 мкмоль/г, SH-групп – 2,3 моль/г, активность пероксидазы – 12 гмоль/с/г. В плазме крови общие липиды составляли 5,8 г/л, перекисный гемолиз эритроцитов – 55%.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что заявляемый нами способ моделирования центральной дистрофии сетчатки повышает воспроизводимость по сравнению с прототипом вследствие сходства многих звеньев патогенеза клинических гистоморфологических данных модели и возрастной центральной дистрофии сетчатки. Предлагаемая модель центральной дистрофии сетчатки может применяться в экспериментальных исследованиях по разработке новых патогенетически обоснованных методов профилактики и лечения этого тяжелого распространенного заболевания.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ моделирования центральной дистрофии сетчатки путем воздействия на сетчатку экспериментальных животных облучением, отличающийся тем, что, с целью повышения воспроизводимости способа, световое облучение осуществляют люминесцентными лампами дневного света с освещенностью на уровне роговицы 3000–4000 Лк, при этом экспериментальных животных выдерживают на безантиоксидантном рационе в течение 100–120 дней.

Показатели свободнорадикального окисления в сетчатке опытных животных /M±m/

Группа животных	Содержание ди- еновых конъюга- тов /Е/г/	Содержание ма- лонового диаль- дегида /мк- моль/г/	Содержание Н- групп, /моль/г/	Активность глю- татионпероксид азы, нмоль/с/г
Контроль /интак- тные животные/ n=20	5,1±0,31	110 ±6,9	6,9±0,30	50,9 ±3,12
Опытные живо- тные: 30 дней экспери- мента, n=10	18,0 ±1,38	187 ±9,10	9,3 ±0,35	70,1±3,55
100 дней экспе- римента, n=10	29,6±1,81	225 ±11,4	3,2±0,47	17,4 ±2,89

Редактор Составитель И.Губарева
Техред М.Моргентал Корректор В.Петраш

Заказ 2952 Тираж Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101